

University of Groningen

Investigations on the site of production of castle's gastric intrinsic factor

Hoedemaeker, Philippus Jacobus

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1965

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Hoedemaeker, P. J. (1965). *Investigations on the site of production of castle's gastric intrinsic factor*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING

In dit proefschrift worden de resultaten meegedeeld van een onderzoek naar de lokalisatie van de intrinsic factor van Castle in de maag van de mens en van enkele dieren.

Er werd onderzocht welk gedeelte van het maagslijmvlies intrinsic factor vormt door het bepalen van het vitamine B₁₂ bindende vermogen van extracten van verschillende gedeelten van het maagslijmvlies met behulp van de Sephadex gel filtratie. De specificiteit van deze vitamine B₁₂ binding werd getest met anti-intrinsic factor serum, verkregen van patienten met pernicieuze anemie.

De cellulaire lokalisatie van intrinsic factor werd volgens het zelfde principe bepaald. Het was mogelijk de affiniteit van diverse cel-typen voor vitamine B₁₂ te onderzoeken met behulp van autoradiografie van cryostaatcoupes van het maagslijmvlies die geïncubeerd waren met radioactieve vitamine B₁₂ met een hoge specifieke activiteit. Steun voor de specificiteit van deze vitamine B₁₂ binding werd verkregen door de coupes voor te behandelen met anti-intrinsic factor serum.

In hoofdstuk I wordt een overzicht gegeven van de literatuur over de plaats waar intrinsic factor wordt geproduceerd. Meulengracht toonde aan dat de intrinsic factor bij het varken wordt gevormd in het antrum pylori en in het duodenum. Enkele jaren later vonden FOX en CASTLE dat de intrinsic factor in de mensenmaag afkomstig is uit het fundus slijmvlies. REIMANN en medewerkers deelden mee dat extracten van de leb-maag van het rund intrinsic factor activiteit hadden bij patienten met pernicieuze anemie. Bij de rat, die onderzocht is door KEUNING en medewerkers, wordt intrinsic factor ook in het fundusslijmvlies van de maag gevormd. Met behulp van autoradiografie van coupes van de rattenmaag, die geïncubeerd waren met radioactieve vitamine B₁₂, vonden deze auteurs

een sterke binding voor dit vitamine in de hoofdcellen. Daarom veronderstelden zij dat de hoofdcel in de rat verantwoordelijk was voor de produktie van de intrinsic factor.

In hoofdstuk II worden de gebruikte methoden beschreven. Extracten van verschillende maaggedeelten van de onderzochte dieren werden getest op hun gehalte aan intrinsic factor door middel van de Sephadex gel filtratie techniek welke beschreven werd door ABELS, BOUMA en NIEWEG (1963).

Autoradiografie werd toegepast op cryostaatcoupes van maagslijmvlies die gefixeerd waren in een koude verzadigde oplossing van ammoniumsulfaat. Het gebruik van deze oplossing was essentieel zowel bij het fixeren voorafgaande aan het incuberen met vitamine B₁₂ als bij het spoelen ter verwijdering van de overmaat niet gebonden radioactiviteit.

In hoofdstuk III wordt in het kort de anatomie en de histologie van het maagslijmvlies van de onderzochte soorten beschreven (mens, Rhesus aap, kat, konijn, cavia, rat, muis, rund en varken). De belangrijkste macroscopische en microscopische verschillen worden vermeld. De kleuring met de PAS techniek van de wandcellen van de verschillende diersoorten wordt besproken.

In hoofdstuk IV worden de uitkomsten vermeld van de regionale lokalisatie van intrinsic factor in het maagslijmvlies met behulp van gel filtratie. Als binding van vitamine B₁₂ geremd kan worden door voorbehandeling met anti-intrinsic factor serum wordt gesproken van specifiek vitamine B₁₂ bindend vermogen. Specifieke binding werd bij het varken gevonden in het pylorusslijmvlies in engere zin en in het slijmvlies van het duodenum, terwijl het fundus slijmvlies geen specifieke affiniteit voor vitamine B₁₂ had. In de overige onderzochte diersoorten werd specifieke binding van vitamine B₁₂ alleen in de extracten van het fundusslijmvlies gevonden.

In hoofdstuk V worden de resultaten van de autoradiografie besproken. Specifieke binding van vitamine B₁₂ werd gevonden in het cytoplasma van de wandcellen van mens, Rhesus aap, kat, konijn, cavia en rund. Bij de rat en de muis toonden alleen de hoofdcellen

een door anti-intrinsic factor serum te blokkeren binding van vitamine B_{12} . Bij het varken bleken de kliercellen van het pylorusslijmvlies in engere zin en die van de Brunnerse klieren in het duodenum specifiek vitamine B_{12} te binden.

In hoofdstuk VI worden de resultaten van het onderzoek besproken. De cellen die specifiek vitamine B_{12} binden worden verantwoordelijk geacht voor de produktie van intrinsic factor, hoewel het moeilijk te begrijpen is dat een macro-molecule met een specifieke functie door tenminste drie verschillende cel-typen wordt geproduceerd bij de verschillende diersoorten. Daar echter het vermogen om vitamine B_{12} te binden een essentiële eigenschap van intrinsic factor is en bovendien de binding van vitamine B_{12} in de cellen belemmerd wordt door voorbehandeling met anti-intrinsic factor serum is het aannemelijk dat het bestanddeel van het cytoplasma van deze cellen met affiniteit voor vitamine B_{12} inderdaad de intrinsic factor van Castle is.

RÉSUMÉ

Dans cette thèse sont publiés les résultats de recherches sur la localisation du facteur intrinsèque de Castle dans l'estomac de l'homme et de quelques animaux.

La partie de la muqueuse gastrique dans laquelle est sécrété le facteur intrinsèque, a été localisée en évaluant la liaison de la vitamine B_{12} d'extraits de différentes parties de la muqueuse gastrique de la chromatographie avec Sephadex. La spécificité de cette liaison de la vitamine B_{12} est testée au moyen du sérum anti facteur intrinsèque, obtenu à partir de patients atteints d'anémie pernicieuse.

La localisation cellulaire du facteur intrinsèque est déterminée de la même façon. Il a été possible de montrer l'affinité d'un type de cellules pour la vitamine B_{12} , au moyen d'une autohistoradiographie de coupes cryostatées de la muqueuse gastrique, mises en incubation avec la vitamine B_{12} radioactive d'une haute activité spécifique. La recherche de la spécificité de cette liaison de la vitamine B_{12} a été facilitée par le traitement préliminaire des coupes avec un sérum anti facteur intrinsèque qui fait disparaître la liaison de la vitamine B_{12} .

Le chapitre I donne une vue d'une bibliographie des études qui se rattachent à la localisation de la sécrétion du facteur intrinsèque. Meulengracht démontrait que le facteur intrinsèque est sécrété chez le porc dans l'antrum du pylore et dans le duodénum. Quelques années plus tard, Fox et Castle découvrirent que, chez l'homme, le facteur intrinsèque est sécrété par la muqueuse du fond de l'estomac. Puis une communication de Reimann et de ses collaborateurs montra que des extraits de la caillette du boeuf prouvaient l'activité du facteur intrinsèque chez des patients atteints d'anémie pernicieuse. Keuning et ses collaborateurs découvrirent que le rat sécrète son facteur intrinsèque aussi dans la muqueuse du fond de l'estomac. Avec l'aide d'autohistoradiographie de coupes cryostatées d'estomac

de rat, incubées avec de la vitamine B₁₂ radioactive, ils purent montrer une forte liaison de cette vitamine dans les cellules principales. Aussi supposèrent-ils que la cellule principale chez le rat, était responsable de la sécrétion du facteur intrinsèque.

Le chapitre II contient une description du matériel et des méthodes de travail employées. Des extraits de divers fragments d'estomac des animaux examinés, furent testés pour déterminer l'activité du facteur intrinsèque, en employant la technique de la chromatographie avec Sephadex qui a été décrite par Abels, Bouma et Nieweg (1963).

On a essayé l'autohistoradiographie sur des coupes cryostatées de la muqueuse gastrique, fixées dans une solution froide saturée de (NH₄)₂SO₄. L'emploi de cette solution était essentiel aussi bien pour la fixation précédant l'incubation avec la vitamine B₁₂ que pour le lavage de l'excès de radioactivité non fixée.

Le chapitre III contient une description de l'anatomie et de l'histologie de la muqueuse gastrique des animaux étudiés (homme, singe, chat, lapin, cobaye, rat, souris, boeuf et porc). Les divergences les plus importantes, macroscopiques et microscopiques, y sont mentionnées. Il est question de la coloration des cellules bordantes des diverses espèces d'animaux grâce à la réaction „acide périodique de Schiff” (PAS).

Le chapitre IV donne les résultats de la localisation régionale du facteur intrinsèque dans la muqueuse gastrique grâce à la chromatographie. La liaison de la vitamine B₁₂, qui peut être freinée par le sérum anti facteur intrinsèque, est appelée la capacité de lier spécifiquement la vitamine B₁₂. Cette liaison spécifique a été trouvée chez le porc dans la muqueuse du pylore dans un sens étroit, et dans la muqueuse duodénale, tandis que la muqueuse du fond de l'estomac ne montre aucune capacité spécifique de la liaison de la vitamine B₁₂. Chez les autres espèces d'animaux examinées la liaison de la vitamine B₁₂ a été trouvée seulement dans les extraits de la muqueuse du fond de l'estomac.

Le chapitre V contient une discussion des résultats obtenus par l'autohistoradiographie. Une liaison spécifique de la vitamine B₁₂ a

été trouvée dans le cytoplasme des cellules bordantes de l'homme, du singe, du chat, de la cobaye, du lapin et du boeuf. Chez le rat et la souris, les cellules principales montraient cette liaison de la vitamine B_{12} , freinée par le sérum anti facteur intrinsèque. Chez le porc, il semble que les cellules glandulaires de la muqueuse du pylore dans un sens étroit, et les glandes de Brunner dans le duodénum, possèdent la capacité de la liaison spécifique de la vitamine B_{12} .

Dans le chapitre VI nous trouvons une discussion des résultats obtenus. Les cellules, qui présentent la liaison spécifique de la vitamine B_{12} , sont considérées comme sécrétant le facteur intrinsèque, bien qu'il soit difficile de comprendre qu'une macromolécule, avec une fonction spécifique, soit produite par au moins trois différentes sortes de cellules dans les différentes espèces animales. Puisque, toutefois, la possibilité de lier la vitamine B_{12} est une propriété essentielle du facteur intrinsèque, et que, de plus, la capacité de lier la vitamine B_{12} trouvée est freinée dans les cellules par le sérum anti facteur intrinsèque, on peut admettre que l'élément liant la vitamine B_{12} , détecté dans le cytoplasme de ces cellules, est en effet le facteur intrinsèque.

SUMMARY

This thesis consists of a report of a series of studies about the site of production of Castle's intrinsic factor in man and in some animal species. The region of the stomach responsible for intrinsic factor production was determined by making extracts of the various parts of the stomach and measuring the vitamin B₁₂ binding capacity of these extracts by a Sephadex gel filtration procedure. Arguments for the specificity of the vitamin B₁₂ binding were obtained by the use of anti-intrinsic factor serum from pernicious anemia patients.

The same principle was applied to the localisation studies at the cellular level. In this case it was possible to determine the cell type with special affinity for vitamin B₁₂ by autoradiography of cryostat sections incubated with B₁₂Co⁵⁷ or B₁₂Co⁵⁸ with a very high specific activity. Pretreatment with anti-intrinsic factor gamma globulin again was used to provide evidence in support of the specificity of the vitamin B₁₂ binding power.

In chapter I the information available about the site of production of intrinsic factor is reviewed. In the hog Meulengracht has demonstrated intrinsic factor activity in the glandular layer of the pyloric part of the stomach and in the duodenum. Some years later it was shown by Fox and Castle that in man intrinsic factor is produced by the fundic part of the gastric mucous membrane. REIMANN et al. have reported that extracts of the abomasum of the cow have intrinsic factor activity in pernicious anemia patients. The rat which has been the subject of a study by KEUNING et al., also produces intrinsic factor in the fundic part of the stomach. In this animal a high affinity of the chief cells for vitamin B₁₂ was demonstrated by these workers who used autoradiography of sections incubated with radioactive vitamin B₁₂. These cells were therefore thought to elaborate intrinsic factor in this species.

In chapter II a description is given of the materials and methods used in this study. Saline extracts of the various parts of the stomach of the different species were investigated for their intrinsic factor content by the Sephadex gel filtration method reported by ABELS et al. (1963¹). The autoradiographic procedure was applied to sections made with a cryostat and fixed with cold saturated ammonium sulphate solution. The use of this solution was essential both in the fixation preceding the application of the radioactive vitamin B₁₂ and the subsequent washing necessary for the removal of excess radioactivity.

Chapter III consists of a brief description of the normal anatomy and histology of the gastric mucous membrane of the investigated species. Attention has been paid to the differences in the gross anatomical as well as in the microscopical structure of the stomach in the various species: man, Rhesus monkey, rat, mouse, cat, rabbit, guinea pig, cow and hog. Some differences in the PAS staining of the parietal cells of these species are described.

In chapter IV the results of the study of the regional localisation of intrinsic factor are presented. Specific vitamin B₁₂ binding power which was defined as binding of vitamin B₁₂ susceptible to inhibition by pretreatment with anti-intrinsic factor serum, was found in the hog in the pyloric zone proper and the duodenum, while the hog fundus was inactive in this respect. In the other species investigated specific vitamin B₁₂ binding power was found only in the fundus extracts.

In chapter V the results of the autoradiographic study are presented. Specific binding of radioactive vitamin B₁₂ was associated with the cytoplasm of the parietal cells in the human stomach as well as in some animal species: Rhesus monkey, cat, rabbit, guinea pig and cow. In the rat and in the mouse the vitamin B₁₂ binding component susceptible to inhibition by anti-intrinsic factor serum was localized in the chief cells of the fundic glands. The glandular cells of the pyloric zone proper and the cells of the Brunner glands in the duodenum were the site of specific vitamin B₁₂ binding power in the hog.

In chapter VI the significance of these results is discussed. The cells containing a specific vitamin B₁₂ binding component are considered to be responsible for the elaboration of intrinsic factor, even though it is hard to understand that intrinsic factor, a macromolecule with a highly specific function, is produced by at least three different cell types. It is believed that these different cells in the various species are indeed the source of intrinsic factor because affinity for vitamin B₁₂ is known to be an essential characteristic of Castle's intrinsic factor and because as far as is known binding components inhibited by anti-intrinsic factor serum always have the biologic effect of intrinsic factor on the absorption of vitamin B₁₂.